

APOPTOSIS DAN RESPON BIOLOGIK SEL SEBAGAI FAKTOR PROGNOSA RADIOTERAPI KANKER

Siti Nurhayati dan Yanti Lusiyantri

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN

- Jalan Cinere Pasar Jumat, Jakarta – 12440
- PO Box 7043 JKSKL, Jakarta – 12070

PENDAHULUAN

Kanker merupakan masalah paling utama dalam bidang kedokteran dan merupakan salah satu dari 10 penyebab kematian utama di dunia serta merupakan penyakit keganasan yang bisa mengakibatkan kematian pada penderitanya karena sel kanker merusak sel lain. Sel kanker adalah sel normal yang mengalami mutasi/perubahan genetik dan tumbuh tanpa terkoordinasi dengan sel-sel tubuh lain. Proses pembentukan kanker (karsinogenesis) merupakan kejadian somatik dan sejak lama diduga disebabkan karena akumulasi perubahan genetik dan epigenetik yang menyebabkan perubahan dalam pengaturan normal kontrol molekuler perkembangan biakan sel. Perubahan genetik tersebut dapat berupa aktivasi proto-onkogen dan atau inaktivasi gen penekan tumor yang dapat memicu pembentukan tumor. Berbagai macam percobaan (bahkan sampai jutaan) telah dilakukan untuk mempelajari karakteristik suatu kanker dengan menggunakan hewan percobaan seperti tikus, mencit, anjing, domba, bahkan organisme bersel tunggal, dll [1].

Di seluruh dunia, lebih dari 10 juta pasien menjalani diagnosa kanker setiap tahun. Ini belum termasuk kanker kulit. Lebih dari separoh penderita kanker tersebut bermukim di negara-negara berkembang dengan kasus kanker yang terus bertambah secara dramatis dari waktu ke waktu. Diperkirakan hampir 15 juta penderita akan menjalani diagnosa kanker di tahun 2015 mendatang dengan hampir semua pasien berasal

dari negara berkembang yang berkontribusi 85% populasi dunia. Yang paling menyedihkan adalah bahwa hanya 1/3 dari negara-negara tersebut yang memiliki fasilitas radioterapi yang baru berjumlah 2.200 mesin, sebagian besar mesin kobalt-60, jauh di bawah jumlah yang diharapkan yakni 5.000 unit [2].

Sekitar 50% pasien kanker menjalani terapi dengan radiasi atau radioterapi sehingga radiasi berperan sangat penting untuk penyembuhan penyakit kanker [3]. Radioterapi kanker bertujuan untuk memaksimalkan pengontrolan kanker serta meminimalkan terjadinya komplikasi pada jaringan normal disekitarnya. Untuk memperbaiki keluaran/ hasil pengobatan dengan radioterapi, maka beberapa hal penting yang perlu dikaji secara kuantitatif adalah efek biologik yang terjadi setelah pemberian dosis radiasi dimana seluruh dosis dapat terarahkan sepenuhnya pada jaringan tumor. Akhir-akhir ini pendekatan-pendekatan biologik telah diajukan oleh para peneliti dengan tujuan membantu para ahli onkologi radiasi dalam menghadapi proses yang kompleks dari perencanaan radioterapi. Mekanisme radiobiologik pun ditentukan dengan tujuan untuk mengendalikan pembelahan sel tumor dan memperkecil komplikasi terhadap jaringan normal didasarkan pada parameter biologi molekuler seperti apoptosis. Hal ini bertujuan untuk memperkecil kompleksitas masalah [4]. Respon sel tumor terhadap radiasi dan karakteristik lainnya ditentukan tidak hanya oleh fenotipe sel tumor tetapi juga oleh

sensitivitas mikrovaskuler dan berbagai macam faktor lainnya. Tentunya respon tumor terhadap radioterapi juga dipengaruhi oleh faktor dari segi radiasi, yang tidak akan diulas dalam tulisan ini. Pertumbuhan tumor yang cepat ternyata sangat berpengaruh pada keberhasilan pengontrolan tumor dengan radioterapi fraksinasi [5,6]. Dalam makalah ini diuraikan tentang parameter penting apoptosis dan respon biologik sel yang ternyata berperan sangat menonjol dalam keberhasilan radioterapi.

FENOMENA MOLEKULER DALAM SEL KANKER

Sel kanker adalah sel yang tidak mengetahui sinyal kapan mereka berhenti melipat ganda. Sel ini tidak mampu berinteraksi secara sinkron dengan lingkungan di sekitarnya dan membelah tanpa terkendali serta bersaing dengan sel normal dalam memperoleh bahan makanan dan oksigen dari tubuh. Tumor dapat menggantikan jaringan sehat dan terkadang menyebar ke bagian lain dari tubuh yakni suatu proses pemendekan umur yang lazim disebut metastasis. Potensi metastasis ini diperbesar oleh perubahan genetik. Jika tidak diobati, kebanyakan kanker mengarah ke rasa sakit dan bahkan kematian.

Sel kanker terbentuk melalui perubahan genetik rangkap/ganda dalam sel induk dari suatu organ tubuh. Sebagian perubahan yang tidak dihilangkan ini akan terus menumpuk bersamaan dengan bertambahnya umur yang terkadang tidak dapat dihindari. Predisposisi genetik, faktor lingkungan dan gaya hidup adalah faktor-faktor yang penting terhadap munculnya kanker. Sebagai contoh beberapa orang sejak lahir telah membawa mutasi tertentu dalam DNA-nya yang dapat mengarah ke sel kanker. Sebagai contoh, seorang wanita lahir dengan mutasi pada gen yang disebut *BRCA1* akan terjangkit kanker payudara atau rahim jauh lebih banyak daripada wanita yang tidak mempunyai mutasi demikian. Kebiasaan sosial juga dapat ikut berperan dalam pembentukan kanker. Sinar matahari dapat

menyebabkan mutasi pada sel kulit. Orang dengan kulit terang dari benua Eropa yang pindah ke daerah dengan banyak matahari (tropis) seperti Australia sangat rentan terhadap kanker kulit disebabkan karena paparan sinar matahari yang berlebihan [7].

Hasil pengkajian menyatakan bahwa sel kanker berbeda dari sel normal pada sifat biologi molekulernya yang khas. Berbagai studi telah mempelajari sifat ini seperti kelainan/anomali sistem transduksi signal seluler yang berhubungan dengan kontrol perkembangan biakan sel seperti reseptor dari faktor pertumbuhan atau penghambatan kontak antar sel, transmisi signal intraseluler, dan transfer signal pada gen pengontrol pertumbuhan sel. Pemicu kanker (karsinogen) eksogen (dari luar) dan proses biologik endogen dapat menyebabkan mutasi pada untai DNA berupa delesi, insersi atau substitusi basa baik transisi maupun transversi. Mekanisme endogen kerusakan DNA tersebut adalah fenomena deaminasi 5-metilsitosin. Metilasi DNA merupakan mekanisme epigenetik yang melibatkan pengaturan ekspresi suatu gen. Studi spektrum mutasi menyatakan adanya corak khas dari perubahan DNA yang diinduksi oleh mutagen endogen dan eksogen tertentu pada gen yang berhubungan dengan kanker [8].

Sebagian besar obat kanker menyebabkan munculnya efek samping berupa rasa yang sangat menyakitkan. Para peneliti kanker sedang mencari cara pengobatan yang unggul seperti lebih cepat dan jauh lebih bersahabat dengan pasien. Meskipun banyak ide telah ditemukan, semuanya kembali pada cara mendeteksi dini yang merupakan kunci dalam mempertinggi kesempatan melawan penyakit ini. Oleh karena itu, untuk pengobatan yang lebih baik diperlukan teknik deteksi yang lebih cepat.

Berbagai macam sifat khas kanker memerlukan pendekatan yang berbeda-beda. Kenyataan yang harus dihadapi adalah bahwa kanker dapat membunuh. Menurut American Cancer Society, "Kanker muncul ketika sel dalam suatu bagian tubuh mulai membelah tanpa

kontrol. Meskipun terdapat banyak sekali jenis kanker, semuanya berawal dari lepasnya kendali pembelahan sel yang tidak normal". Sel abnormal ini mengambil kendali tubuh dan terus membelah, bahkan melebihi daya hidup dan jumlah sel normal. Kanker juga dapat menyebar ke seluruh tubuh dan akhirnya mematikan. Namun pada kenyataannya penderita kanker tetap berusaha mencari cara pengobatan. Meskipun tidak 100% efektif, pengobatan tertentu membuat pasien tetap dapat bertahan hidup. Karena kanker tertentu hanya dapat diobati dengan teknik tertentu, pasien kadangkala tidak memiliki pilihan pengobatan yang mana yang sebaiknya diambil. Meskipun pengobatan kanker saat ini telah jauh lebih baik daripada sepuluh tahun yang lalu, tetap saja memerlukan pendekatan dan perbaikan disana-sini. Efek samping dapat membuat badan tidak enak, bahkan dapat menyebabkan kematian. Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan sejak tahun 1950-an dan paling banyak digunakan, baik setelah maupun sebelum pengobatan dengan radiasi. Pil, penembakan dan penyuntikan intravena merupakan cara-cara untuk membawa obat kemoterapi ke dalam tubuh.

TERAPI KANKER DENGAN RADIASI (RADIOTERAPI)

Radiasi adalah jenis pengobatan umum kanker menggunakan partikel atau gelombang berenergi tinggi seperti sinar-X, gamma, elektron atau proton untuk menghancurkan atau merusak sel kanker. Saat ini, lebih dari separo kasus kanker diobati dengan radiasi seperti kanker paru-paru, payudara, leher rahim, dll. Seperti halnya kemoterapi, terapi radiasi memiliki efek samping sehingga harus diperhitungkan secara benar-benar perlu tidaknya tindakan dengan radiasi. Radiasi dapat mempengaruhi kulit, mulut, otak dan paru-paru. Luasnya area yang terpengaruh dikarenakan radiasi diberikan secara lokal. Ini berarti bahwa radiasi diarahkan pada daerah yang sakit, oleh karena itu efek samping biasanya terjadi pada area sasaran. Kulit yang disubyekkan pada radiasi dapat menjadi gelap dan kemudian mengeras.

Selama pengobatan pasien juga merasa kulitnya terkelupas, kering dan gatal. Ketika digunakan untuk mengobati kanker di daerah kepala dan leher, radiasi biasanya menyebabkan mulut kering dan hilang rasa akibat radiasi pada kelenjar ludah dan mati rasa. Ketika otak diarahkan pada radiasi maka akan menyebabkan hilang ingatan, menurunnya gairah seks dan sulit menyesuaikan diri dengan rasa dingin. Paru-paru dapat terkena imbas akibat radiasi. Pasien dapat menderita nafas pendek atau batuk karena menutupnya aliran udara akibat menurunnya surfaktan. Efek tunda pada paru adalah fibrosis (kaku dan kasar) yang menyebabkan menurunnya kemampuan menghirup udara. Iradiasi pada daerah paru-paru yang luas akan menyebabkan nafas pendek dan rasa malas beraktivitas.

Seperti disebutkan di atas, radioterapi adalah pengobatan kanker dengan menggunakan sinar radiasi berenergi tinggi yang difokuskan pada jaringan kanker untuk membunuh atau menghentikan pembelahan sel kanker. Radioterapi kadang-kadang disebut juga terapi radiasi. Seperti halnya pengobatan lain, radioterapi juga bertujuan untuk menyembuhkan kanker. Beberapa kanker dapat diobati hanya dengan radioterapi, namun kadangkala radioterapi masih diperlukan sebagai pelengkap pengobatan lainnya dengan tujuan untuk membunuh sel kanker sisa yang mungkin masih ada setelah operasi. Meskipun telah diobati, terkadang masih terjadi kekambuhan beberapa waktu sesudahnya. Radioterapi yang diberikan setelah operasi disebut radioterapi *adjuvant*. Terkadang radioterapi bisa diberikan sebelum operasi untuk memperkecil ukuran tumor dan membuatnya mudah diambil. Radioterapi yang diberikan sebelum operasi disebut radioterapi *neoadjuvant*. Pada beberapa kasus, radioterapi dan kemoterapi (pengobatan kanker dengan senyawa kimia) digunakan bersama-sama [9].

Tujuan utama terapi penyakit adalah kesembuhan. Setelah menjalani radioterapi, maka untuk istilah kesembuhan pasien, para dokter cenderung menggunakan kata 'remisi' (*remission*) daripada kata 'sembuh' (*cure*). Remisi berarti

tidak ada bukti adanya kanker setelah pengobatan. Jika dikatakan 'dalam remisi' maka ada kemungkinan sembuh. Tetapi pada beberapa kasus, kanker kembali muncul beberapa bulan atau tahun sesudah pengobatan. Hal inilah yang menjadi alasan mengapa beberapa dokter enggan untuk menggunakan kata sembuh (*cured*). Jika kesembuhan tidak realistis dengan pengobatan maka seringkali radioterapi justru dapat membatasi pertumbuhan atau penyebaran kankernya berlangsung lebih lambat. Ini dapat membebaskan pasien dari gejala untuk beberapa waktu. Radioterapi dapat juga digunakan untuk menekan gejala. Bahkan jika tidak mungkin sembuh dan kelihatannya kecil, pemberian radioterapi dapat digunakan untuk memperkecil ukuran kanker. Ini mungkin akan menurunkan gejala seperti pesakitan (*pain*) atau gejala tertekan akibat tumor. Hal ini disebut dengan radioterapi 'palliative'. Radioterapi dapat diberikan secara ekterna atau interna. Radioterapi interna dapat diberikan melalui cairan radioaktif yang diminum atau disuntikkan. Contohnya pospor untuk penyakit sel-sel darah, stronsium untuk kanker tulang dan iodine untuk kondisi keganasan tiroid (bukan kanker) dan kanker tiroid [9].

Seperti disebutkan di muka bahwa untuk memprediksi secara tepat respon tumor terhadap radioterapi memerlukan informasi mengenai beberapa sifat dari tumor itu sendiri. Di samping jenis tumor, parameter ukuran dan tingkat/tahap (*grade*) perkembangan tumor harus selalu dikaji. Indikator prediktif tersebut meliputi jumlah sel kritik/rentan (klonogenik) dalam tumor, radiosensitivitas intrinsik tumor dan sel normal disekelilingnya, kinetika pertumbuhan tumor (T-pot dan fraksi pertumbuhan), dan fraksi sel tumor hipoksik. Karena heterogenitas sel merupakan fenomena yang senantiasa ada, maka respon masing-masing tumor terhadap agensi obat sitotoksik juga akan bervariasi [10]. Informasi sebanyak-banyaknya pada faktor-faktor tersebut akan memperbaiki kemampuan dalam memprediksi respon tumor terhadap radioterapi dan memungkinkan ahli terapi untuk mengefektifkan pengobatan pasien dalam

mengantisipasi repopulasi sel tumor yang cepat atau hipoksia yang senantiasa ada.

APOPTOSIS SEBAGAI FENOMENA AKTIF SEL

Seperti telah kita ketahui bahwa tubuh manusia tersusun oleh bermilyar-milyar sel. Setiap kehidupan berawal dari hanya satu sel yang kemudian membelah menjadi dua, kemudian empat, lalu delapan dan seterusnya. Selanjutnya beberapa sel tersebut berubah menjadi mata, sementara sel yang lain menjadi kulit, jantung, otak dan sebagainya. Setelah membentuk organ, sel berhenti membelah kecuali untuk mengganti sel yang rusak atau akibat luka. Dengan kata lain, sel sehat mengetahui kapan mereka harus membelah dan juga kapan mereka harus berhenti melipatganda [11]. Jika sel gagal mengikuti proses ini maka akan terbentuk kanker.

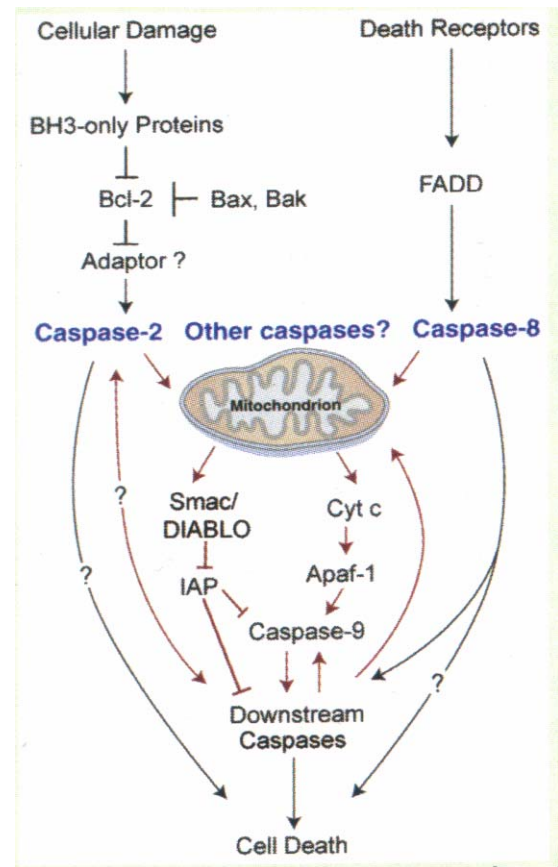
Dalam menjalankan hidupnya, sel melakukan suatu aktivitas yang disebut siklus replikasi sel yang dibagi menjadi 4 fase yakni Gap-1 (fase antara mitosis dan sintesis DNA, G₁), Sintesis (S), Gap-2 (fase antara sintesis dan mitosis, G₂) dan Mitosis (M). Replikasi DNA berlangsung pada fase S dan pemisahan mitotik sister chromatid berlangsung pada fase M. Fase S dan M adalah fase yang paling mudah dipengaruhi oleh berbagai faktor. Oleh karena suatu faktor, misalnya paparan radiasi, sel biasanya melakukan "arrest" pada fase G₁ atau G₂. Hanya setelah perbaikan DNA selesai, pembelahan sel akan memasuki fase berikutnya. Bila sel mengalami kerusakan yang besar, mereka akan mengaktifkan apoptosis yakni kematian sel terprogram melalui digesti enzimatis oleh dirinya sendiri [12]. Apoptosis merupakan suatu mekanisme yang efisien untuk mengeliminasi sel yang tidak diperlukan dan mungkin berbahaya sehingga dapat menyelamatkan organisme [13,14].

Kajian ilmiah menunjukkan bahwa apoptosis adalah program bunuh diri intraseluler yang dilaksanakan dengan cara mengaktifkan

caspase (suatu keluarga sistein protease). Dua jalur utama apoptotik adalah jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur intrinsik meliputi pemberian kode yang memicu proses *mitokondria-dependent* pelepasan sitokrom c dan mengaktifkan caspase-9, dan jalur ekstrinsik meliputi pengaktifan reseptor kematian (*death receptor*, DR) seperti *Fas* (reseptor 1 *tumor necrotic factor*), DR4 dan DR5. Interaksi dengan ligan yang sesuai akan mengarah ke transduksi sinyal yang diawali dengan peliputan molekul yang berhubungan dengan DR seperti *Fas-associated death domain* (FADD) dan berikutnya mengaktifkan caspase-8. Caspase ini kemudian mengkatalis sederet proses proteolitik yang menghasilkan perubahan biokimia dan morfologi khas yang berhubungan dengan proses apoptosis [15]. Gambar 1 menampilkan proses apoptosis atau *programmed cell death* (PCD) yang meliputi sinyal amplifikasi mitokondrial dan melibatkan berbagai macam gen seperti Bax dan Bak.

Kajian lain menyatakan bahwa apoptosis juga merupakan proses aktif dengan menginduksi gen seperti *BAX* dan ekspresi antigen Fas maupun represi/penekanan simultan gen seperti *BCL2* [16]. Jika kerusakan selnya berat, sejumlah gen untuk apoptosis yang dikontrol oleh gen *p53* juga berperan dalam pengaturan siklus sel. Hasil penelitian menunjukkan pengaktifan jalur apoptosis oleh *p53* dapat dilakukan dengan mentransfer *p53* jenis ganas (*wild type*) rekombinan pada sel kanker yang tidak memiliki *p53* (*null*) atau mengalami mutasi. Dengan demikian terdapat tiga mekanisme apoptosis yang berbeda yang mana sebuah sel melakukan program bunuh diri dengan cara apoptosis. Ketiga mekanisme apoptosis tersebut adalah :

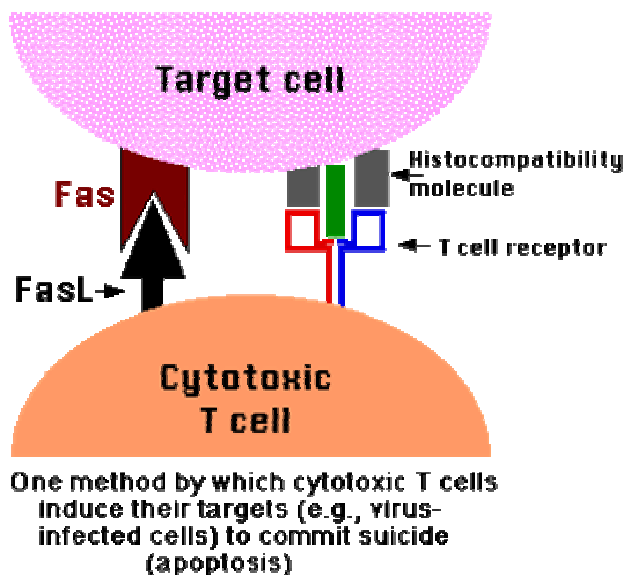
1. Dipicu oleh sinyal yang muncul dalam sel itu sendiri.
2. Dipicu oleh pengaktif kematian di luar sel yang terikat pada suatu reseptor pada permukaan sel seperti $TNF-\alpha$, limfotoksin dan ligan Fas (FasL).
3. Dipicu oleh spesies oksigen reaktif yang membahayakan sel.



Gambar 1. Mekanisme apoptosis atau *programmed cell death* (PCD) yang diinduksi oleh sel T sitotoksik melalui sinyal mitokondrial dan melibatkan sejumlah gen.

Beberapa virus yang berhubungan dengan kanker menggunakan suatu cara (trik) untuk menghindari apoptosis sel yang telah mereka transformasi. Beberapa *human papilloma viruses* (HPV) dapat menyebabkan kanker leher rahim, salah satunya memproduksi suatu protein (E6) yang mengikat dan menon-aktifkan promotor apoptosis seperti *p53*. *Epstein-Barr Virus* (EBV) penyebab *mononucleosis* dan berhubungan dengan limfoma dapat memproduksi suatu protein yang mirip dengan Bcl-2 dan atau menghasilkan protein lain yang menyebabkan sel memproduksi sendiri Bcl-2. Kedua aksi tersebut membuat sel lebih tahan terhadap apoptosis sehingga sel kanker tetap membelah. Satu permasalahan besar yang dihadapi pengobatn AIDS (*acquired immunodeficiency syndrome*)

adalah menurunnya jumlah sel T-CD4⁺ (secara normal sekitar 1000 per mikroliter darah). Sel T-CD4⁺ bertanggung jawab langsung maupun tidak langsung sebagai sel pembantu (helper) untuk semua respon kekebalan tubuh. Jika jumlahnya dibawah 200 per μ l, sel pasien tidak dapat memberikan respon kekebalan dan memulai serangkaian infeksi yang membahayakan. Ini disebabkan karena terjadinya invasi sel T-CD⁺ oleh HIV (*human immunodeficiency virus*). Kurang dari 1 dalam 100.000 sel T-CD4⁺ dalam darah pasien AIDS terinfeksi virus HIV. Dengan demikian diketahui bahwa penyebab hilangnya sel normal (sel T-CD4⁺ tak terinfeksi) adalah apoptosis yang dipicu oleh sel T-sitotoksik (Gambar 2).



Gambar 2. Satu metode dimana sel T sitotoksik menginduksi program kematian sel (apoptosis) pada sel yang terinfeksi suatu virus yang melibatkan ligand protein Fas.

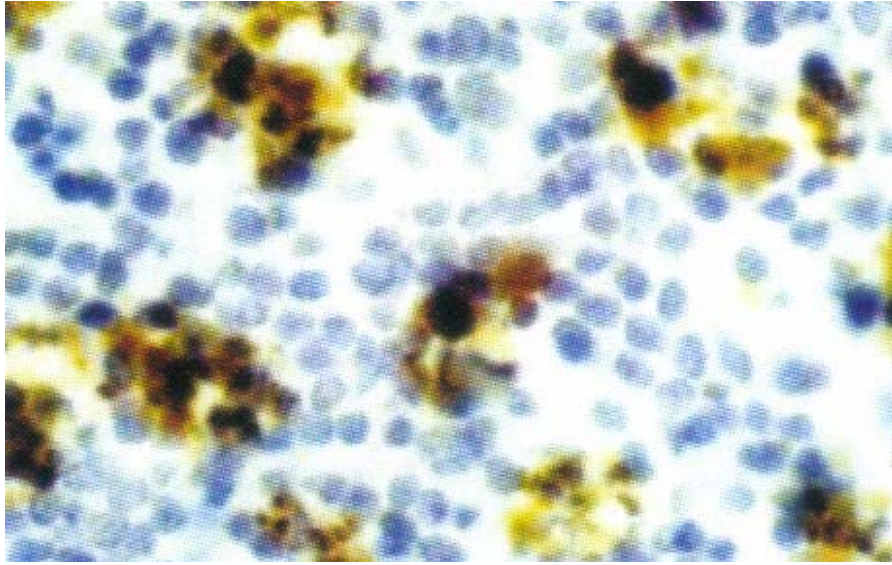
HASIL-HASIL PENGKAJIAN RESPON BIOLOGIK SEL TERHADAP RADIASI

Radiasi pengion pada dosis tertentu dapat menyebabkan kerusakan struktur seluler. Inilah yang menjadi andalan utama pengobatan dengan radiasi dimana hanya kerusakan struktural sel kanker yang berujung pada kematian sel. Namun

di pihak lain untuk mempertahankan diri dari kerusakan akibat radiasi maka sel kanker memiliki suatu sistem perbaikan yang kompleks termasuk respon molekulnya. Efisiensi sistem ini, khususnya daya tahan hidup sel, tergantung pada produk gen yang dikode oleh sekuens DNA. Dengan demikian status gen dan aktivitas produk gen tergantung pada integritas sekuens DNA. Perubahan sekuens ini dapat tidak sesuai atau bahkan merusak fungsi gen itu sendiri. Pasien yang mengidap kanker dengan sel yang radiosensitif dapat diidentifikasi dengan menguji gen tertentu yang terlibat dalam respon radiasi dengan mencari mutasi yang mempengaruhi performa sistem perbaikan [17]. Sejumlah gen tersebut antara lain *p53*, *bax*, *ras*, dll.

Beberapa peneliti menyatakan bahwa respon tumor terhadap radiasi ditentukan tidak hanya oleh fenotipe sel tumor tetapi juga oleh sensitivitas mikrovaskuler dan berbagai macam faktor lainnya. Salah satu diantaranya adalah pertumbuhan sel seperti yang dipelajari oleh Barros MG dkk [3] pada sel fibrosarkoma MCA/129 dan melanoma B16F1 pada dua macam mencit. Mencit pertama adalah mencit yang kekurangan gen *Bax* (gen yang diperlukan untuk apoptosis), dan mencit yang kedua memiliki kekebalan terhadap asam *sphingomyelinase* (*asmase*) yang secara nyata menurunkan apoptosis endotelial mikrovaskular *baseline*. Tumor pada mencit jenis pertama tanpa gen *Bax* dapat tumbuh 200 hingga 400 kali lebih cepat daripada tumor jenis ganas (*wild-type*). Jadi dapat diketahui bahwa apoptosis merupakan faktor homeostatik yang mengatur pertumbuhan tumor berdasarkan angiogenesis. Di samping itu tumor juga menunjukkan penurunan indeks apoptosis endotel akibat iradiasi. Berbeda dengan tumor pada mencit *wild-type*, sel mencit tanpa *Bax* bersifat resisten terhadap radiasi dosis tunggal hingga 20 Gy. Studi ini menunjukkan bahwa kerusakan mikrovaskuler dapat menentukan respon sel tumor terhadap radiasi pada kisaran dosis yang relevan untuk klinis [3].

Dalam penelitian lainnya, Dewey dkk [18] mengidentifikasi induksi apoptosis akibat radiasi



Gambar 3. Hasil pendeteksian apoptosis menggunakan reaksi imunologis pada sel timus mencit. Inti warna coklat adalah sel yang mengalami apoptosis yang dipulas dengan antibodi.

disertai pengamatan sel nekrotik baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, ditunjang dengan analisis gen-gen yang mengontrol apoptosis. Mereka membuktikan bahwa target radiasi adalah membran plasma atau DNA inti sel, dan pentingnya peranan apoptosis akibat radiasi pada radioterapi. Prioritas yang tinggi harus difokuskan pada penentuan jalur-jalur molekuler yang penting dalam ekspresi dan modulasi apoptosis akibat radiasi. Secara spesifik, proses yang mengatur apoptosis pada interfase sebelum sel membelah harus dibedakan dari proses sebelum pembelahan yang mengatur *mis-repair* kerusakan DNA, yang menyebabkan aberasi kromosom yang teramati pada sel mitotik, yang pada gilirannya menyebabkan hasil pembelahan sel yang memiliki aberasi akan mati baik oleh apoptosis atau nekrosis. Selanjutnya, perlu pengkajian secara molekuler untuk menentukan apakah sel yang membelah dengan atau tanpa aberasi kromosom akan mengalami apoptosis atau nekrosis. Tinjauan ini penting untuk menentukan bagaimana pengaturan apoptosis akibat radiasi akan mempengaruhi daya tahan hidup klonogenik, dan mungkin ketidak stabilan genomik pada keturunan yang tetap hidup.

Liu dkk [19] meneliti efek radioterapi pra-operasi sebagai suatu pendekatan proliferasi dan

apoptosis sel kanker rektum pada 80 pasien dengan fase kanker II atau III di China. Pasien dibagi menjadi dua kelompok yakni kelompok yang hanya menjalani pengobatan dengan pengangkatan (operasi) saja (40 kasus) dan kelompok yang menjalani radioterapi sebelum operasi dengan dosis radiologik 40 Gy (40 kasus). Ekspresi protein Ki-67 dalam kanker rektum dideteksi secara immunohistokimia sedangkan apoptosis dideteksi dengan teknik TUNEL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok radioterapi, volume tumor mengecil secara nyata pada 14 kasus, mengecil sebagian pada 18 kasus, dan hanya sedikit mengecil pada 8 kasus, dengan laju efisiensi 80%. Terdapat korelasi yang sangat positif antara apoptosis spontan dan indeks *marker* Ki-67 pada jaringan kanker sebelum radioterapi. Ekspresi Ki-67 ternyata lebih rendah setelah radioterapi daripada sebelum radioterapi, demikian halnya pada kelompok kontrol ($P=0.017$ vs. $P=0.011$). Ekspresi Ki-67 pada jaringan para-tumor yang berjarak 2 cm dari tumor ternyata lebih rendah daripada sebelum radioterapi. Indeks apoptosis (AI) pada jaringan kanker rektum lebih tinggi secara nyata setelah radioterapi daripada sebelum radioterapi, demikian juga pada kelompok kontrol. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa

radioterapi dapat menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis sel kanker rektum. Tingkat ekspresi Ki- 67 dapat ditinjau sebagai indeks screening radioterapi pra-operatif.

Dari sejumlah faktor yang mempengaruhi keluaran radioterapi, radiosensitivitas inheren sel tumor berhubungan erat dengan respon radiasi klinis. Di samping itu spektrum radiosensitivitas *cell lines* (kultur sel tunggal) yang dibuat dari berbagai macam tumor secara *in vitro* dapat digunakan dalam mempelajari kesembuhan tumor dengan radioterapi. Oleh karena itu merupakan hal yang sangat menarik untuk menentukan mekanisme perbedaan radiosensitivitas inherent di antara *cell line* terutama untuk tumor seperti melanoma dimana radiosensitivitasnya masih menjadi masalah klinis yang besar. Informasi demikian akan berkontribusi dalam mendefinisikan secara tepat jalur-jalur biokimia yang terlibat dalam proses kerusakan sel oleh sinar-X pada sasaran biologik yang relevan. Hanya dengan menggunakan pengetahuan ini maka perkembangan pendekatan molekuler untuk mengendalikan proses penyembuhan tumor dengan sinar-X akan tercapai. Ada sejumlah besar bukti bahwa *DNA double strand breaks* (dsb) adalah kerusakan sitotoksik akibat radiasi utama. Secara teoritis perbedaan radiosensitivitas seluler oleh karenanya dipengaruhi oleh berbagai level atau efisiensi induksi DNA dsb atau perbaikan [20].

Masih ada sejumlah parameter penting lain yang dapat dijadikan sebagai faktor prognosa untuk keberhasilan radioterapi kanker. Faktor tersebut adalah ukuran tumor dan metastasis nodus limpa (21), fase penyakit dan sub tipe histologi (22), yang keduanya merupakan faktor yang berperan signifikan secara statistik. Reseptor progesteron juga dapat dijadikan sebagai acuan prognosa seperti dilaporkan oleh Suzuki dkk (23) yang menunjukkan hasil studi imunohistokimia pada status reseptor progesterone yang berhubungan erat dengan prognosa dari adenokarsinoma kanker serviks setelah diobati dengan radioterapi. Di samping itu gen-gen yang berhubungan dengan tumor

menunjukkan korelasi dengan sifat klinis suatu keganasan pada manusia. Tsuda dkk (24) menunjukkan bahwa over-ekspresi produk gen p53 yang berhubungan dengan prognosa yang jelek. Di lain pihak, Kihara dkk [25] menyatakan over-ekspresi produk proto-onkogen c-erbB2 ditemukan lebih besar pada pasien dengan penyakit stadium klinis lanjut yang menunjukkan prognosa yang jelek. Lu dkk [26] mencatat ekspresi produk p21/waf1/cip1 berhubungan dengan prognosa yang bagus (favorable).

Hasil penelitian oleh Folkma dkk [27] menyatakan bahwa tumor diperkirakan mensekresi faktor angiogenesis yang mempromosi neovaskularisasi di sekitar tumor. Angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru sangat penting untuk perkembangan jaringan, reproduksi sel dan penyembuhan luka. Pada tumor manusia, faktor angiogenesis diketahui berhubungan dengan aktivitas yang lebih tinggi dari progresi tumor, infasi dan metastasis. Terlebih lagi vaskularisasi dikategorikan sebagai faktor prognosa penting pada tumor padatan khususnya karsinoma payudara, prostat dan paru-paru serta melanoma kulit (kutaneous). Faktor pertumbuhan sel endotel dari platelet (*platelet-derived endothelial cell growth factor* (PD-ECGF)) yang memiliki aktivitas angiogenesis juga terbukti sebagai faktor prediktif untuk prognosa yang baik dari karsinoma sel skuamosa serviks yang diobati dengan radioterapi saja [28].

PENUTUP

Kanker yang saat ini belum dapat dideteksi keberadaannya hanya dari uji darah, dapat disembuhkan dengan cara mengambilnya dari tubuh. Namun untuk sel kanker yang terjadi pada suatu jaringan atau organ yang penting atau berada ditempat yang sulit dioperasi maka radioterapi menjadi salah satu pilihan. Sejumlah besar faktor biologi ikut andil dan sangat menentukan dalam respon suatu sel kanker terhadap radioterapi. Faktor-faktor tersebut berkisar dari radiosensitivitas sel hingga fenotip

sel kanker seperti sifat proliferasi yang berhubungan erat dengan apoptosis. Apoptosis dapat dideteksi menggunakan teknik immunohistokimia atau menggunakan suatu kit komersial. Sel dengan tingkat/indeks apoptosis yang tinggi akan memberikan respon yang baik terhadap radiasi. Radiosensitivitas sel dapat dimodifikasi dengan memberikan suatu perlakuan atau dengan menentukan fase siklus sel kanker dan perlu ditunjang oleh banyak segi. Potensi proliferasi tumor merupakan salah satu faktor pengendalian tumor dan prediktor biologik penting dalam radioterapi. Hal ini sangat jelas bahwa pertumbuhan sel selama pemberian sitotoksik seperti radiasi akan memberikan dampak langsung pada keluaran (*outcome*). Bukti klinik dan laboratorium melalui berbagai penelitian mengindikasikan bahwa laju pengontrolan sel lokal dengan radioterapi dapat menurun dengan membagi waktu pemberian dosis dan semua ini ditentukan oleh kemampuan sel melakukan repopulasi selama pengobatan. Dari sekian banyak parameter yang berpengaruh, spektrum radiosensitivitas kultur *in vitro* sel tunggal yang dibuat dari berbagai macam kanker cukup berpengaruh pada keberhasilan pengobatan kanker dengan radioterapi.

DAFTAR PUSTAKA

1. KONDO, S. Health effects of low-level radiation, Kinki University Press, Osaka, Japan and Medical Physics Publishing, Madison USA, 1993.
2. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, A silent crisis : cancer treatment in developing countries, *Buletin IAEA*, 2000.
3. BARROS, M.G., PARIS, F., CARDO, C.C., LYDEN, D., RAFII, S., FRIEDMAN, A.H., FUKS, Z., and KOLESNICK, R., Tumor response to radiotherapy regulated by Endothelial Cell Apoptosis, *Science* 300, 1155-1159, 2003.
4. BORKENSTEIN, K., LEVEGRUN, S. And PESCHKE, P., Modeling and computer simulations of tumor growth and tumor response to radiotherapy, *Radiation Research* 162, 71-83, 2004.
5. HENDRY, J., BENTZEN, S., DALE, S., FOWLER, J., WHELDON, T., JONES, B., MUNRO, A., SLEVIN, N., and ROBERTSON, A., A modeled comparison of the effects of using different ways for missed treatment days in radiotherapy, *Clinical Oncology* 8, 297-307, 1996.
6. POULSEN, M., DENHAM, J., PETERS, L., LAMB, D., SPRY, N., HINDLEY, A., KRAWITZ, H., HAMILTON, C., KELLER, J. and WALKER, Q., A randomized trial of accelerated and conventional radiotherapy for stage II and IV squamous carcinoma of the head and neck: A trans-Tasman Radiation Oncology Group Study. *Radiother. Oncol.* 60: 113-122, 2001.
7. SANKARANARAYANAN, K. and CHAKRABORTY, Cancer predisposition, radiosensitivity and the risk of radiation-induced cancer I. Background, *Radiat. Res.* 143:121-43, 1995.
8. VAHAKANGAS, K.H., SAMET, J.M., METCALF, R.A., WELSH, J.A., BENNET, W.P., LANE, D.P. and HARRIS, C.C. Mutations of p53 and *ras* genes in radon-associated lung cancer from uranium miners. *The Lancet* 339:576-80, 1992.
9. AUERBACH, M., Conversations about cancer, Williams & Wilkins, London, 1997.
10. OLIVE, P.L., JACKSON, S.M., and DURAND, R.E., Predicting tumor response to radiotherapy using the comet assay, dalam : Prediction of response in radiation therapy, radiosensitivity and repopulation (Paliwal, B, Herbert, D, Fowler, J.F. and Kinsella, T. eds), American Institute of Physics, Inc. USA, 1993, hal. 65-76.
11. MC.KUSICK, V.A., On-line Mendelian inheritance in man (OMIM) National Center for Biotechnology Information, *Nat Inst of Health*, Bethesda, 2000.
12. WYLLIE, A.H., KERR, J.F.R. and CURRIE, A.R., Cell death: significance of apoptosis. *Int Rev Cytol.* 68: 251-306, 1980.
13. WILLIAM, G.T., Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. *Cell* 65: 1097-8, 1991.
14. GILBERT, S., Developmental biology. 3-rd ed. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, 1991.
15. NEWMAYER, D.D. and FERGUSON, M.S., Mitochondrial releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell* 112: 481-90, 2003.
16. McBRIDE, W.H., CHIANG, C.S., OLSON, J.L., WANG, C.C., HONG, J.H., PAJONK, F., DOUGHERTY, G.J., IWAMOTO, K.S., PERVAN, M., and LIAO, Y.P., A sense of danger from radiation, *Radiation Research* 162, 1-9, 2004.
17. MORGAN, W.F., DAY, J.P., KAPLAN, M.I., MCGHEE, E.M., and LIMOLI, C.L., Genomic

- instability induced by ionizing radiation. *Radiation Research* 146:247-58, 1996.
18. DEWEY, W.C., LING, C.C., dan MEYN, R.E., Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy, *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 33(4):781-96, 1995.
 19. LIU, F.K., CHEN, C., QI, X.P., XU, Z., dan LI, J.S., Effect of preoperative radiotherapy as an adjunctive approach on proliferation and apoptosis of cancer cells in rectal cancer, *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 8(1): 71-73, 2005.
 20. McKAY, MJ. and KEFFORD, RF. The spectrum of *in vitro* radiosensitivity in four human melanoma cell lines is not accounted for by differential induction or rejoining of DNA double strand breaks. *Int. J Radiat. Oncol. Biol. Phys* 31: 345-352, 1995.
 21. LEMINEN, A., PAAVONEN, J., FORSS, M., dkk Adenocarcinoma of the uterine cervix, *Cancer* 65:53-59, 1990.
 22. REED, S.I., BAILLY, E., DULIC, V., dkk, G1 control in mammalian cells. *J. Cell Sci Suppl* 18: 69-73, 1994.
 23. SUZUKI, Y., NAKANO, T., ARAI T, dkk, Progesterone receptor is a favorable prognostic factor of radiation therapy for adenocarcinoma of the uterine cervix, *Int J Radiat Oncol. Biol Phys* 47: 1229-1234, 2000.
 24. TSUDA, H., JIKO, K., TSUGANE, S., dkk, Prognostic value of p53 protein accumulation in cancer cell nuclei in adenocarcinoma of the uterine cervix, *Jpn J Cancer Res* 86:1049-1053, 1995.
 25. KIHARA, T., TSUDA, H., TESHIMA, S. dkk, Prognostic significance of the overexpression of c-erbB2 protein in adenocarcinoma of the cervix. *Cancer* 73: 148-153, 1994.
 26. LU, X., TOKI, T., KONISHI, I. dkk, Expression of p21WAF1/Cip1 in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1998, 82:2409-2417.
 27. FOLKMA, J. and SHING, Y., Angiogenesis. *J. Biol. Chem* 267: 10931-10934, 1992.
 28. OKA, K., SUZUKI, Y., IIDA, H., and NAKANO, T., PD-ECGF positivity correlates with better survival, while iNOS has no predictive value for cervical carcinomas treated with radiotherapy. *Int. J Radiat. Oncology Biol. Phys* 57: 217-221, 2003.